

# Identification of human GATA-2 gene distal IS Exon and its expression in hematopoietic stem cell fractions

著者	潘 小青
内容記述	Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 2385, 2000.3.24 Joint authors: Naoko Minegishi ... [et al.] Offprint. Originally published in: Journal of Biochemistry, v. 127, pp. 105-112, 2000 Includes supplementary treatise
発行年	2000
その他のタイトル	ヒトGATA-2遺伝子遠位第1エクソン「IS EXON」の同定と造血幹細胞分画における発現
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/1428">http://hdl.handle.net/2241/1428</a>

氏 名 (国 籍)	はん しょう せい 瀧 小 青 (中 国)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2385 号
学位授与年月日	平成 12 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	医学研究科
学 位 論 文 題 目	Identification of human GATA-2 gene distal IS exon and its expression in hematopoietic stem cell fractions (ヒト GATA-2 遺伝子の遠位に存在する新たな第 1 エクソンの同定と造血幹細胞分画における発現)
主 査	筑波大学教授 医学博士 長 澤 俊 郎
副 査	筑波大学教授 医学博士 中 内 啓 光
副 査	筑波大学教授 医学博士 内 田 和 彦
副 査	筑波大学講師 医学博士 小 島 寛

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

転写因子 GATA-2 は造血幹細胞の増殖と分化に必須であり、マウス GATA-2 遺伝子には、IG と IS の二つのプロモーターが存在し、遠位の IS プロモーターは造血幹細胞、同前駆細胞及び神経細胞に局限して機能している。ヒト GATA-2 遺伝子ではプロモーターは 1 つだけ報告されており、その構造はマウス IG プロモーターと高い相同性が見られる。本研究では、ヒト GATA-2 遺伝子のさらに上流側にマウス IS エクソンに相同するものが存在し、ヒト造血幹細胞分画に発現しているか否かを検討した。また、マウス、ヒト GATA-2 遺伝子の 5' 側領域の塩基配列を同定し、分子進化上の保存性の検討から、転写制御等に関わるシス領域 h の推定を試みた。

### (対象と方法)

P1 ファージ・ライブラリーを PCR 法によりスクリーニングし、得られた GATA-2 クローンをサブクローン化し、多段階の欠失変異体を作製し、gene walking と組み合わせて IG エクソンの上流領域の塩基配列を同定した。GATA-2 の上流域についてマウス IS エクソンと高い相同性を示す領域を検索した。予想された IS エクソン、造血幹細胞やヒト白血病細胞における発現を RNA ブロット法、RNAase Protection Assay 法及び RT-PCR を用い検討した。さらに、マウス、ヒト GATA-2 遺伝子の 5' 側領域の塩基配列の相同性を DNASIS と pipmarker のソフトを使って解析した。

### (結果)

ヒト GATA-2 遺伝子領域を 69Kbp 含む P1 ファージクローンを得、GATA-2 遺伝子上流域 10kbp の塩基配列を決定した結果、IG エクソンから 4.7～5.0kb 上流の領域にマウス IS プロモーター／エクソンと相同性の高い部分が見いだされた。RNAase プロテクション法、RNA ブロット法により、赤血球系と未分化骨髓球系白血病細胞株においてマウス IS エクソンと相同性の高い部分が転写されており、ヒトでの IS プロモーター／エクソンの存在が証明された。正常ヒト骨髓と臍帯血の CD34 陽性細胞分画において IS エクソンを含む mRNA の発現が強いことを RT-

PCR法を用いて証明した。GATA-2遺伝子の5'側塩基配列とマウスのそれを比較した所、ISとIGプロモーター領域以外にも6つのよく保存された領域があり、マウスのDNAaseI高感受性領域、HSサイトとも一致していた。

#### (考察)

ヒトGATA-2遺伝子の5'側マウスGATA-2遺伝子のISエクソンおよびプロモーターに相当するもう1つエクソンおよびプロモーターが存在することを明らかにし、ISエクソンがヒト白血病細胞株や正常造血幹細胞／前駆細胞分画において発現していることより、ISプロモーターの活性を介してGATA-2遺伝子が発現し、ヒトでも造血幹細胞の増殖や分化などを調節していることが示唆された。ヒトとマウスGATA-2遺伝子においてISおよびIGプロモーター近傍の10Kbpを比較・検討した結果から、8カ所の相同性の高い領域を見出し、その一部はマウスのDNAaseI高感受性領域、HSサイトとも一致していた。この結果は種間で保存された転写調節機構が働いているため、転写制御に必要な領域の塩基配列が保存されたと推察される。この相同領域の解ら迅速なGATA-2遺伝子の転写調節機構の解明が期待できる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

論文はヒトGATA-2遺伝子でもマウス同様に遠位のISプロモーターが造血幹細胞／前駆細胞分画において働いている可能性を明らかにした。さらに、GATA-2遺伝子の転写調節領域8カ所の塩基配列がヒトでもよく保存されていることを明らかにした。この結果は造血幹細胞及び前駆細胞特異的に遺伝子を発現させるシステムを構築できる可能性を含み、博士論文として十分な研究と評価した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。